บทที่ 16
ฟังไจ : ยีสต์

ยีสต์ (yeast) ก็เช่นเดียวกันกับเชื้อราคือเป็นฟังไจแต่แตกต่างจากเชื้อราเนื่องจากโดยปกติและส่วนมากเป็นเซลล์เดียว ปกติมีการสืบพันธุ์ทางร่างกายโดยการแตกหน่อ (budding) เนื่องจากเป็นเซลล์เดียวจึงเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ได้รวดเร็วกว่าเชื้อราซึ่งเป็นเส้นสาย อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงสารเคมีได้มากกว่าเชื้อราเมื่อมีน้ำหนักเท่ากัน ทั้งนี้เนื่องจากมีอัตราส่วนของผิวหน้าต่อปริมาตรสูงกว่าเชื้อรา ยีสต์มีความแตกต่างจากสาหร่ายเนื่องจากไม่มีขบวนการสังเคราะห์แสงหรือโปรโตซัวเนื่องจากมีผนังเซลล์แข็ง ยีสต์ถูกจำแนกได้ง่ายจากแบคทีเรียเพราะมีขนาดใหญ่กว่าและมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายอย่างแตกต่างกัน

ทั้ง ๆ ที่มีความแตกต่างจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ยีสต์ก็ยังไม่อาจถูกจัดให้เป็นจุลินทรีย์ในหมวดหมู่ที่แน่นอนได้ หรืออีกนัยหนึ่งยีสต์ไม่ได้เป็นอันหนึ่งอันเดียวกันทางอนุกรมวิธานตามธรรมชาติ ถึงแม้ว่ายีสต์จะแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกันก็ตาม เนื่องจากยีสต์นั้นขาดแคลนข้อกำหนดทางสัณฐานวิทยาจึงต้องใช้ลักษณะต่าง ๆ ทางสรีรวิทยามากกว่าทางสัณฐานวิทยาเพื่อบ่งบอกความแตกต่างของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ยีสต์บางพวกก็ไม่สร้างสปอร์และถูกจัดเป็นพวก Fungi Imperfecti บางพวกก็สร้างสปอร์เพศและแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ Ascomycetes หรือ Basidiomycetes อย่างชัดเจน

ยีสต์มีทั้งหมดประมาณ 350 สปีชีส์ถูกแบ่งแยกเป็นประมาณ 39 จีนัส ถ้าเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ในหมู่อื่นจะเห็นได้ว่าหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธานของยีสต์มีน้อยมากเนื่องจากสปีชีส์ของสาหร่าย แบคทีเรีย และโปรโตซัวมีถึงนับหลายพันสปีชีส์

ยีสต์มีบทบาทในการรับใช้มนุษย์มาหลายศตวรรษโดยการหมักน้ำผลไม้ทำให้ขนมปังฟู และทำให้อาหารบางชนิดมีคุณภาพดีและมีคุณค่าทางอาหาร ความสำคัญของยีสต์นั้นยิ่งมีมากขึ้นในปัจจุบันเนื่องจากถูกใช้ในขบวนการหมักหลายอย่างและถูกใช้เพื่อการสังเคราะห์วิตามิน ไขมัน และโปรตีนต่าง ๆ จากน้ำตาลอย่างง่ายและแอมโมเนียไนโตรเจน ยีสต์ยังได้ช่วย

ส่งเสริมความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์โดยถูกเลือกให้เป็นเซลล์ตัวอย่างในการแสดงถึงขบวนการพื้นฐานทางชีวเคมีและเมตาโบลิซึ่มของเซลล์มีชีวิตพวกยูคารีโอติก การเลือกเช่นนี้ไม่ได้ทำให้เป็นที่ประหลาดใจเลย เนื่องจากยีสต์นั้นสามารถถูกผลิตขึ้นมาได้เป็นจำนวนมากโดยกลวิธีทางอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามยีสต์บางชนิดก็ทำให้เกิดโรคแก่พืชและสัตว์และบางพวกก็ทำให้อาหารเน่าเสียหรือทำให้สิ่งทอและวัสดุอื่น ๆ เสื่อมสลาย

บุคคลแรกซึ่งได้มองเห็นยีสต์ทางกล้องจุลทรรศน์คือ Antony van Leeuwenhoek ผู้ช่วยให้วิชาจุลชีววิทยาเจริญเติบโตขึ้นมา ในปี 1680 เขาได้ส่งรูปวาดและรายละเอียดของยีสต์เซลล์ไปยังราชสมาคมในลอนดอนดังรูปที่ 16-1 หลังจากการศึกษาของ Louis Pasteur วิชาการเกี่ยวกับยีสต์และอนุกรมวิธานของยีสต์ได้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว วิชาการเกี่ยวกับยีสต์ถูกเรียกว่าวิชา zymology

รูปที่ 16-1 **A reproduction of drawings sent by Leeuwenhoek to Sir Thomas Gale on June 14, 1680. The drawings represent yeast cells ("Globules of yeast") as seen by the Dutch microbiologist.**

การจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์

ระบบการและอนุกรมวิธานเกี่ยวกับยีสต์มีการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ สปีชีส์และลักษณะใหม่ ๆ ได้ถูกแนะนำเข้าสู่แนวทางของอนุกรมวิธาน ลักษณะใหม่ ๆ เพื่อทำให้แตกต่างออกไปเช่นนี้ได้ถูกทำให้เป็นไปโดยความก้าวหน้าในหลาย ๆ ด้าน การทดลองผสมพันธุ์ยีสต์และปฏิกิริยาทางน้ำเหลืองวิทยา (serology) ได้ช่วยให้มีความเข้าใจถึงความสัมพันธ์กันระหว่างสปีชีส์ต่าง ๆ ดีขึ้น กลวิธีการวิจัยซึ่งก้าวหน้า ได้ถูกนำมาใช้เกี่ยวกับการจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์ ประกอบด้วยการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

เป็นสิ่งซึ่งมีประโยชน์อย่างพิเศษในการตรวจสอบรูปร่างที่แน่นอนของสปอร์ กล้องจุลทรรศน์เรืองแสงถูกใช้ศึกษาการสืบพันธุ์ระดับเซลล์ การวิเคราะห์ DNA base และตรวจสอบการทาบขนานของเส้น DNA ต่างสายพันธุ์กัน (DNA hybridization) เป็นที่หวังกันว่าลักษณะการจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์จะเป็นไปตามธรรมชาติคืออยู่บนพื้นฐานแห่งประวัติบรรพบุรุษและวิวัฒนาการ (phylogyny) ในปัจจุบันการจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์ยังคงไม่เป็นไปตามธรรมชาติและยังมีบางสิ่งบางอย่างที่ถูกกำหนดขึ้นเองตามอำเภอใจ ซึ่งแตกต่างจากการจัดแบ่งหมวดหมู่ของแบคทีเรีย

ข้อกำหนดที่ใช้ในการจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์ เช่นเดียวกันกับแบคทีเรียในการจัดแบ่งหมวดของยีสต์จะต้องคำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกที่ปรากฏขึ้น (phenotypic variation) ในเชื้อหนึ่ง ๆ ตัวอย่างเช่น เชื้อต่าง ๆ ของยีสต์หลายชนิดอาจเปลี่ยนแปลงลักษณะโคโลนีได้จากการมีผิวเรียบเป็นมัน (S) กลายเป็นผิวหยาบขรุขระ (R) ยีสต์อาจสูญเสียความสามารถในการสร้างสปอร์ถ้าถูกเก็บไว้นานเกินไปบนอาหารที่จัดเตรียมขึ้น เซลล์ต่าง ๆ ของยีสต์สามารถค่อย ๆ ทยอยเปลี่ยนแปลงจากแฮพลอยด์ (haploid) เป็นดิพลอยด์ (diploid) ได้เนื่องจากขบวนการดิพลอยด์ไดเซชั่น (diploidization) โดยไม่มีขบวนการสร้างสปอร์ติดตามมา ดังนั้นจึงมักปรากฏว่ามีดิพลอยด์เซลล์เป็นจำนวนมากอยู่ในท่ามกลางแฮพลอยด์เซลล์ นอกจากนี้ยีสต์อาจมีการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาการหมักและการใช้น้ำตาลต่าง ๆ เนื่องจากการผ่าเหล่าแล้วถูกคัดเลือกต่อ ๆ มาโดยธรรมชาติ ดังนั้นการไม่ถ่ายเชื้อบ่อยและการเก็บรักษาเชื้อภายหลังจากทำให้แห้งในขณะแช่เย็นจนแข็ง (lyophilization) จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับยีสต์เพื่อลดการเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่าง ๆ

ข้อกำหนดสำหรับการบรรยายลักษณะและการชันสูตรยีสต์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 16-1

ตารางที่ 16-1 Criteria for the Description and Identification of Yeasts

Morphological characteristics:

1. Characteristics of vegetative reproduction
2. Characteristics of vegetative cells

Cultural characteristics :

1. Characteristics of growth in liquid media
2. Characteristics of growth on solid media

Physiological characteristics :

1. Utilization of carbon compounds
2. Utilization of nitrogen compounds
3. Growth in vitamin-free medium
4. Growth on media of high osmotic pressure
5. Growth at elevated temperatures
6. Acid production
7. Production of extracellular, amyloid compounds
8. Hydrolysis of urea
9. Fat splitting
10. Pigment formation
11. Ester production
12. Actidione (cycloheximde) resistance
13. Gelatin liquefaction

Sexual reproduction :

1. Characteristics of the ascus and ascospores
2. Interfertility in ascomycetous yeasts
3. Characteristics of the teliospores and sportidia

แนวทางโดยทั่วไปในการจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์ การจัดแบ่งหมวดหมู่ของยีสต์ในระดับชั้น (taxa) ที่สูงขึ้นได้สรุปไว้ในตารางที่ 16-2 ซึ่งแสดงถึงสามสาขาใหญ่ของยีสต์คือ

1. ยีสต์ซึ่งมีการสร้างแอสโคสปอร์ (ascosporogenous or ascomycetous yeast) สปอร์เกิดขึ้นเนื่องจากการรวมตัวกันของนิวเคลียส (karyogamy) แล้วแบ่งตัวแบบไมโอสิส (meiosis) เกิดขึ้นในแอสคัส

2. ยีสต์ซึ่งมีการสร้างเบสิดิโอสปอร์ (basidiomycetous yeast) สปอร์เกิดขึ้นเนื่องจากการรวมตัวกันของนิวเคลียสแล้วแบ่งตัวแบบไมโอสิสเกิดขึ้นบนเบสิเดี่ยม

3. ยีสต์ซึ่งไม่มีระยะสมบูรณ์ถูกจัดอยู่ในพวก Fungi Imperfecti (Deuteromycetes)

ลักษณะของยีสต์ที่ถูกจัดแบ่งหมวดหมู่ดังในตารางที่ 16-2 อาจอธิบายได้อย่างสั้น ๆ ดังต่อไปนี้

1. ใน order Endomycetales ประกอบด้วยยีสต์ซึ่งสร้างแอสโคสปอร์สองแฟมิลี่ที่รู้จักคือ Saccharomycetaceae มีสปอร์รูปร่างต่าง ๆ และ Spermophthoraceae มีสปอร์รูปเข็ม

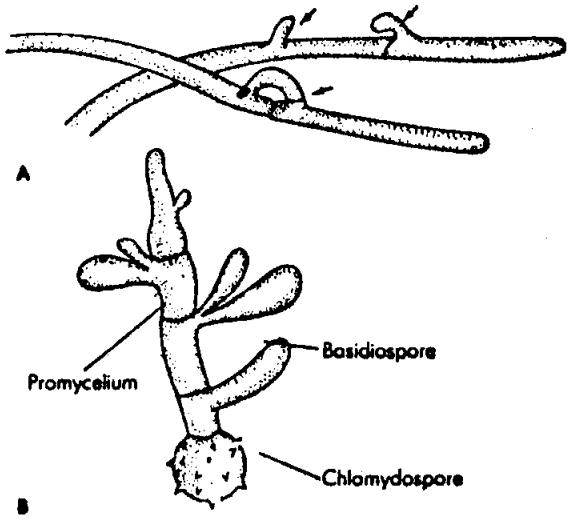
ตารางที่ 16-2 A Partial Classification of Yeasts

HIGHER TAXA	FAMILIES	SUBFAMILIES	GENERA
Class Ascomycetes			
Subclass Hemiasco-mycetidae			
Order Endomycetales	Spermophthoraceae		*Nematospora, Metschnikowia, Coccidiascus*
	Saccharomycetaceae	Schizosaccharomycoideae	*Schizosaccharomyces*
		Saccharomycoideae	*Endomycopsis, Hansenula, Pachysolen, Citeromyces, Dekkera, Pichia, Debaryomyces, Schwannlomyces, Wingea, Kluyveromyces, Saccharomyces, Saccharomycopsis, Lodderomyces*
		Lipomycetoideae	*Lipomyces*
		Nadsonioideae	*Nadsonia, Saccharomycodes, Hanseniaspora, Wickethamia*
Class Basidiomycetes			
Subclass Heterobasidio-mycetidae			
Order Ustilaginales	Ustllaginaceae (?)		*Leucosporidium, Rhodosporidium*
Form-class Deuteromycetes			
From-order Moniliales	Sporobolomycetaceae		*Bullera, Sporobolomyces, Sporidiobolus*
	Cryptococcaceae		*Rhodotorula, Cryptococcus, Torulopsis, Candida, Trigonopsis, Schizoblastosporlen, Kloeckera, Pityrosporum, Brettanomyces, Trichosporon, Oosporidium, Sterigmatomyces*

ใน family Saccharomycetaceae ประกอบด้วยหลายซับแฟมิลีคือ subfamily Schizosacch-romycoideae มีจีนัสเดียวคือ *Schizosaccharomyces* มีการสืบพันธุ์ทางร่างกายโดยการแตกตัว (fission) subfamily Saccharomycoideae ประกอบด้วยยีสต์ซึ่งสร้างแอสโคสปอร์ทุกจีนัสที่มีการแตกหน่อ (budding) ตามด้านข้างของลำตัวได้หลายแห่ง (multilateral budding) subfamily Lipomy cetoideae ประกอบด้วย genus *Lipomyces* มีสปอร์รูปไข่สีเหลืองอำพันอยู่ในแอสคัส และ subfamily Nadsonioideae ประกอบด้วยจีนัสซึ่งมีการแตกหน่อเฉพาะที่หัวหรือท้ายของเซลล์ (bipolar) เท่านั้น

2. order Ustilaginales ประกอบด้วย basidiomycetous yeast มีสองจีนัสคือ *Leucosporidium* และ *Rhodosporidium* ทั้งสองนี้เป็นจีนัสซึ่งจัดตั้งขึ้นมาใหม่ มีตำแหน่งในแฟมิลีที่ยังไม่แน่นอน

เซลล์มีการแตกหน่อไม่ซีเลี่ยมอาจมีหรือไม่มีคีมจับเชื่อมต่อ (clamp connection) ดังรูปที่ 16-2 chlamydospore (teliospore) มันถูกสร้างขึ้น (chlamydospore คือเซลล์หนึ่งในไฮฟ่าซึ่งเปลี่ยนแปลงไปมีผนังเซลล์หนาห่อหุ้มแล้วท้ายที่สุดก็หลุดแยกตัวออกจากไฮฟ่า มีพฤติการณ์เหมือนสปอร์พักตัว) Basidiospore (sporidium) ถูกสร้างขึ้นตามด้านข้างหรือที่ปลายของ promycelium (basidium) ซึ่งงอกออกจาก chlamydospore ดังรูปที่ 16-2 เซลล์มีสีแดงหรือส้มหรือไม่มีสี

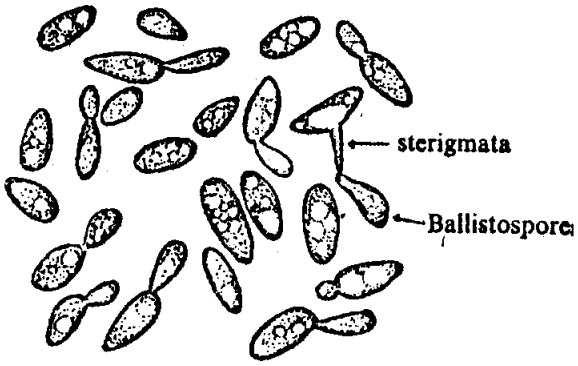


รูปที่ 16-2 Some morphological features used in classifying yeasts: (A) Dikaryotic mycelium showing clamp connections (arrows) which serve to bridge two adjacent cells and which function during cell division to preserve the dikaryotic condition. (B) Germinating chlamydospore showing a four-celled promycelium (basidium), each cell of which is producing sporidia (basidiospores).

3. ยีสต์ใน form-order Moniliales ถูกจัดอยู่ในสองแฟมิลีคือ Sporobolomycetaceae และ Cryptococcaceae สมาชิกของ Sporobolomycetaceae ถูกจำแนกลักษณะโดยการสร้าง ballistospore ซึ่งเป็นสปอร์ไม่เกี่ยวกับเพศแบบหนึ่ง ดังรูปที่ 16-3 ส่วน Cryptococcaceae เป็นยีสต์ซึ่งไม่มีการสร้าง ballistospore

(ก) Sporobolomycetaceae เซลล์มีการแตกหน่อและอาจปรากฏเป็นไมซีเลี่ยมซึ่งมีหรือไม่มีคีมจับเชื่อมต่อกันก็ได้ ซูโดไมซีเลี่ยม (pseudomycelium) ก็อาจปรากฏขึ้นได้เช่นกัน และมีการสร้าง ballistospore

(ข) Cryptococcaceae เซลล์มีการแตกหน่อ ซูโดไมซีเลี่ยม ไมซีเลี่ยมแท้จริงและ arthrospore อาจถูกสร้างขึ้น เชื้อมีสีครีม เหลือง ส้ม หรือแดง



รูปที่ 16-3 *Sporobolomyces roseus*

นิเวศวิทยาของยีสต์

ยีสต์แพร่กระจายอย่างกว้างขวางในธรรมชาติและถูกนำพาไปโดยกระแสลมและแมลง ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นแซโปรไฟต์อาศัยอยู่บนอินทรีย์วัตถุซึ่งไม่มีชีวิต แต่บางพวกก็เป็นพาราไซต์อาศัยอยู่บนเจ้าบ้านที่มีชีวิตเพื่อให้ได้รับอาหาร ยีสต์พวกที่เป็นพาราไซต์อย่างผูกมัดและกึ่งพาราไซต์บางอย่างสามารถทำให้เกิดโรคขึ้นได้ในคน สัตว์ และพืช

ยีสต์สปีชีส์ต่าง ๆ ต่างกันมากมายถูกพบในดิน ชนิดต่าง ๆ กันของยีสต์ที่ถูกพบในดินมีความสัมพันธ์กับแหล่งของเชื้อ (inoculum) ความสามารถในการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมเฉพาะส่วนประกอบของดินและอุณหภูมิ แสงแดด ความชื้นและปัจจัยอื่น ๆ ยีสต์ถูกพบในที่ดินว่างเปล่าเช่นเดียวกันกับในที่ดินที่มีพืชผลอยู่มากเช่นในป่า และในสวนผลไม้

ยีสต์หลายสปีชีส์อาศัยอยู่ในดินเพื่อความอยู่รอดเท่านั้น ยีสต์บางชนิดในดินก็อาศัยอยู่รวมกับต้นไม้บางชนิด เช่น ต้นสน และต้นโอ๊ตหลายสปีชีส์จนกระทั่งดินภายใต้ต้นไม้เหล่านี้ประกอบด้วยเซลล์ยีสต์ซึ่งมีชีวิตจำนวนมากกว่าดินบริเวณอื่นที่ห่างไกลออกไป

ได้เป็นที่ปรากฏบ่อยครั้งทีเดียวว่าพบยีสต์สปีชีส์ต่าง ๆ ในดินโดยเฉพาะที่ไม่ได้ใช้ในการเพาะปลูกสามารถสร้างสารเมือกขับออกมานอกเซลล์ซึ่งช่วยให้ยีสต์ทนทานต่อสภาพแห้งได้ ยีสต์โดยทั่วไปสามารถใช้สารประกอบคาร์บอนแตกต่างกันได้หลายชนิดจนกระทั่งสามารถเอาชนะจุลินทรีย์อื่นที่เป็นคู่แข่งขันในเรื่องอาหารได้

ยีสต์ในสภาพแวดล้อมซึ่งเป็นน้ำ จากการสำรวจจุลินทรีย์ตั้งแต่ทะเลดำจนถึงทะเลสาบออนทาริโอทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็มและที่ปากแม่น้ำ ได้แสดงให้เห็นว่ามียีสต์แพร่กระจายอยู่

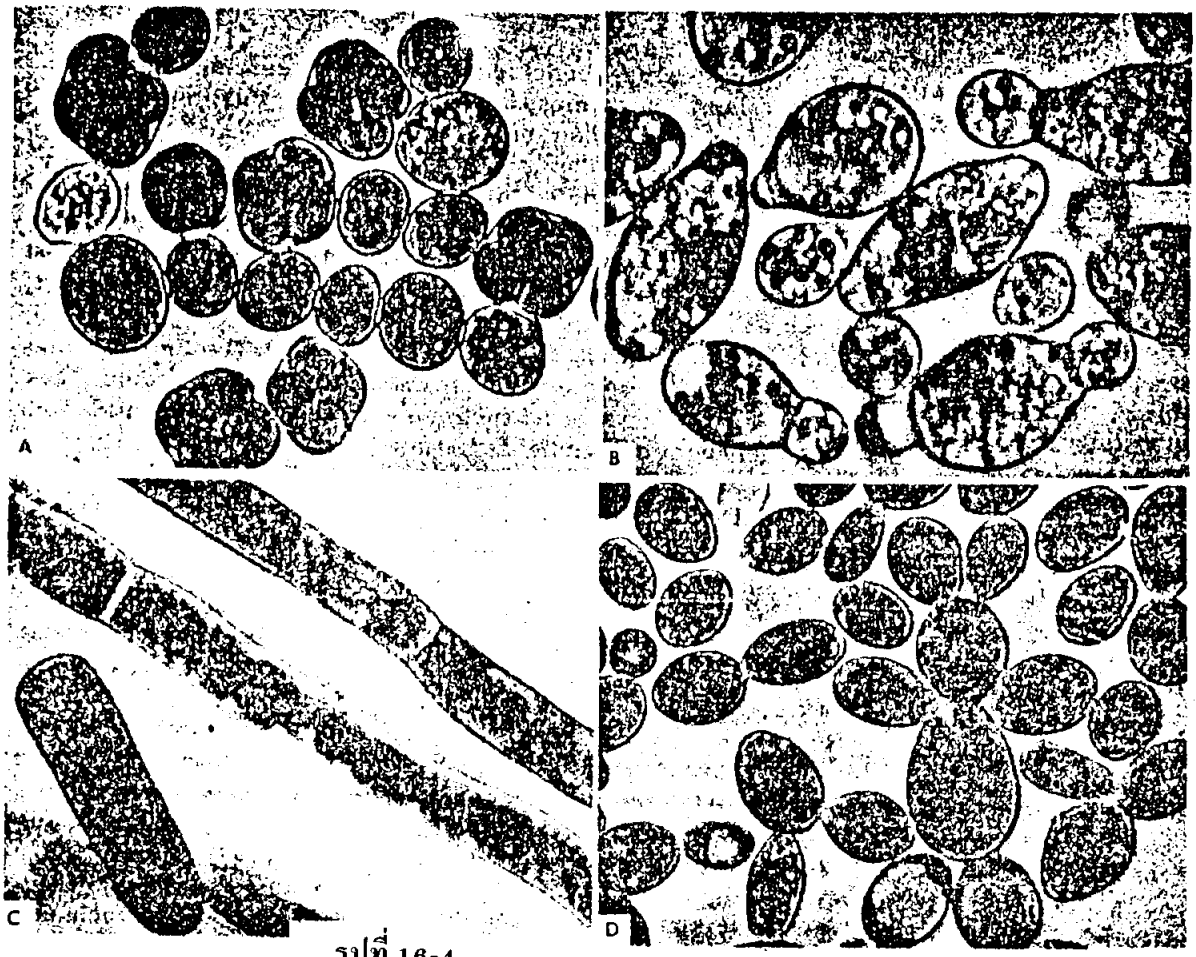
ในทุกสภาพแวดล้อมที่ทำการศึกษา ประชากรยีสต์ปรากฏอยู่เป็นจำนวนมากในน้ำบริเวณชายฝั่งเนื่องจากมีสารอาหารอยู่เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามยีสต์ยังถูกพบได้ในกลางมหาสมุทรที่ความลึก 4,000 เมตร ในทะเลดำประชากรยีสต์จะถูกพบมากในช่วงความลึก 1,000 เมตรขึ้นมาจนถึงผิวน้ำ แต่ที่ความลึกมากกว่านี้เพียง 25 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างเท่านั้นที่ตรวจพบยีสต์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีปริมาณออกซิเจนน้อยลง และมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์สูง ในทะเลสาบออนทาริโอยีสต์ถูกพบทั้งในน้ำและในตะกอน แต่ความหนาแน่นของประชากรยีสต์กับความลึกเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของสารอินทรีย์ไนโตรเจนและไนเตรตไนโตรเจน เซลล์ยีสต์ซึ่งมีชีวิตถูกพบที่ก้นมากกว่าที่ผิวน้ำ

สัณฐานวิทยาของยีสต์

โดยทั่วไปเซลล์ยีสต์มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรียเกือบทั้งหมด แต่ยีสต์ที่มีขนาดเล็กที่สุดก็ไม่ได้มีขนาดใหญ่เท่ากับแบคทีเรียที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ยีสต์มีขนาดต่าง ๆ กันมีความกว้างตั้งแต่ 1 ถึง 5 ไมโครมีเตอร์และมีความยาวตั้งแต่ 5 ถึง 30 ไมโครมีเตอร์หรือมากกว่านี้ โดยทั่วไปยีสต์มีรูปร่างแบบรูปไข่แต่บางพวกก็มีรูปร่างยาวและบางพวกก็มีรูปร่างกลม ยีสต์แต่ละสปีชีส์ถึงแม้จะกล่าวว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นอย่างหนึ่ง ดังรูปที่ 16-4 แต่ภายในเชื้อบริสุทธิ์เองก็ตามยังมีความแตกต่างในขนาดและรูปร่างของแต่ละเซลล์อีกด้วย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อมยีสต์ไม่มีแฟลกเจลล่าหรืออวัยวะอื่นใดที่ใช้ในการเคลื่อนที่

การตรวจสอบยีสต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ สัณฐานวิทยาของยีสต์เซลล์สามารถตรวจสอบได้ด้วยกลวิธีการย้อมสีแบคทีเรียธรรมดา แต่เนื่องจากการย้อมสีบางอย่างทำให้ไม่สามารถมองเห็นสิ่งต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้จึงต้องใช้วิธีการพิเศษหลายอย่างเพื่อแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างเฉพาะต่าง ๆ การย้อมด้วยสี aniline dye อย่างอ่อนนั้นมีประโยชน์แต่เพื่อการสังเกตุรายละเอียดต่าง ๆ ภายในเซลล์โดยเฉพาะนิวเคลียสจะต้องย้อมด้วย iron hematoxylin หรือ Feulgen technique จึงจะได้ผลดี Sudan III ใช้แสดงถึงก้อนไขมัน Neutral red ทำให้ metachromatic granule และ vacuole ปรากฏเป็นสีชมพูจางหรือแดง เซลลูโลสจะปรากฏเป็นสีน้ำเงินในเซลล์ที่ย้อมด้วย zinc chloride-iodine polychrome methylene blue ใช้ย้อมสาร nucleoprotein โปแตสเซี่ยมไอโอไดด์ทำให้เม็ดแป้งมีสีน้ำเงินและไกลโคเจนมีสีน้ำตาลแดง โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ phase-contrast และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะทำให้สามารถสังเกตุเห็นโครงสร้างลักษณะต่าง ๆ ที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยการย้อมสีและกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดา ร่องรอยแผล

จากการแตกหน่อ (bud scar) บนผนังเซลล์เป็นตัวอย่างซึ่งตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



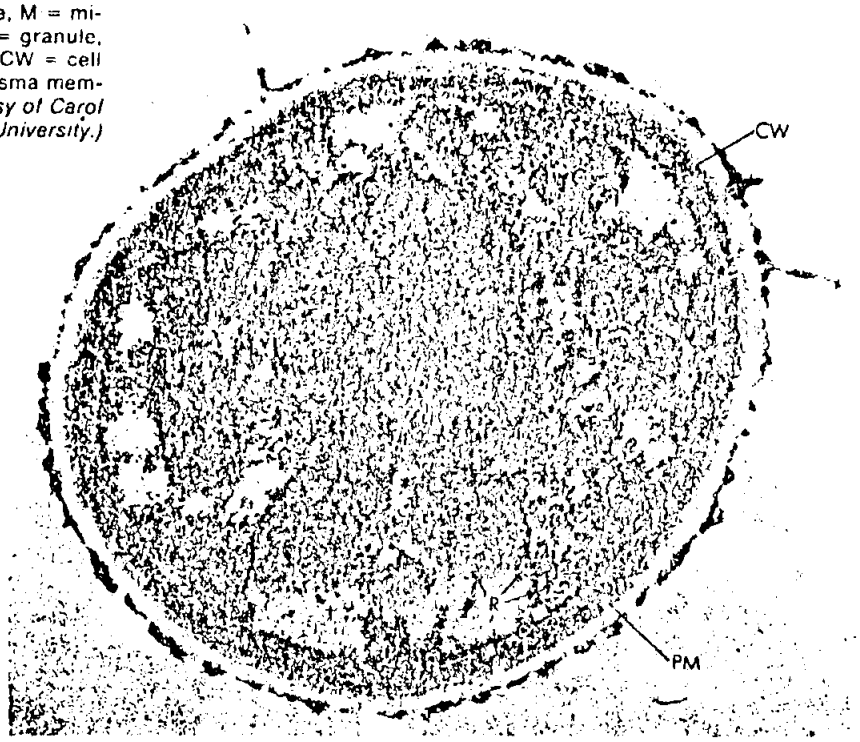
รูปที่ 16-4 The morphology of yeasts varies widely. (A) *Saccharomyces cerevisiae* with cells appearing as vegetative forms, budding cells, and spores (× 73). *(Courtesy of George Svihla)* (B) *Saccharomyces ludwigii* (about × 95). *(From George Svihla, Argonne Natl Lab Annu Rep, 1965.)* (C) *Geotrichum candidum* (about × 110). (D) *Pichia membranaefaciens* (× 88). *[(C) and (D), courtesy of George Svihla.]*

เซลล์วิทยาของยีสต์ (cytology of yeasts)

ยีสต์ก็เช่นเดียวกันกับเชื้อราคือเป็นจุลินทรีย์พวกยูคารีโอติกและมีโครงสร้างพื้นฐานต่าง ๆ เหมือนกันกับพวกยูคารีโอต รูปแบบและโครงสร้างของยีสต์เปลี่ยนแปลงไปตามสปีชีส์ เนื่องจาก *Saccharomyces cerevisiae* มีความสำคัญในด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมจึงทำ

ให้ได้รายละเอียดของยีสต์จากสปีชีส์นี้มากที่สุด แต่จากการศึกษาเมื่อเร็ว ๆ นี้จึงทำให้ได้รายละเอียดเพิ่มขึ้นจากสปีชีส์ต่าง ๆ ของ *Hansenula, Rhodotorula* และอื่น ๆ กลวิธีการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ได้ขยายตัวมากขึ้นเมื่อมีกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ปัจจุบันการตรวจสอบผนังเซลล์และการตัดเซลล์ออกเป็นแผ่นบางมาก (ultrathin section) ทำให้สามารถสังเกตเห็นโครงสร้างและตำแหน่งแล้วยังทำนายถึงหน้าที่การทำงานขององค์ประกอบต่าง ๆ ของยีสต์เซลล์ได้ ดังรูปที่ 16-5

รูปที่ 16-5 The fine structure of the yeast cell *Leucosporidium neoformans* (formerly *Cryptococcus neoformans*), stained with lead citrate and uranyl acetate. Magnification × 42,000. N = nucleus, NM = nuclear membrane, M = mitochondrion, G = granule, R = ribosomes, CW = cell wall, PM = plasma membrane. *(Courtesy of Carol Shaw, McGill University.)*



แคฟซูล (capsule) ยีสต์บางชนิดถูกปกคลุมด้วยสารที่ถูกขับออกมานอกเซลล์มีลักษณะเป็นเมือกหรือเมือกเหนียวข้นเรียกว่าแคฟซูล แคฟซูลของยีสต์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยโพลี-แซกคาไรด์ต่าง ๆ เช่นพวก heteropolysaccharide, mannan และสารประกอบที่คล้ายแป้งต่าง ๆ

ผนังเซลล์ (cell wall) ผนังเซลล์ของยีสต์จะบางเมื่อมีอายุน้อย แต่จะหนาขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้น ด้วยรูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของยีสต์เซลล์ซึ่งถูกฝานเป็นแผ่นบางแสดงให้เห็นว่าผนังเซลล์ของยีสต์มีความหนาประมาณเศษหนึ่งส่วนเจ็ดของเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ ส่วนประกอบของผนังเซลล์ส่วนใหญ่ใน *S. cerevisiae* คือโพลี่แซกคาไรด์สองชนิดคือ glucan (30 - 40%) และ mannan (30%) Glucan ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาล D-glucose เป็นโพลี่แซกคาไรด์ที่พบอยู่ในยีสต์ทุกชนิด แต่ manan ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาล D-mannose จะไม่ปรากฏอยู่ในผนังเซลล์ของสปีชีส์ต่าง ๆ ในจีนัส *Schizosaccharomyces, Nadsonia, Rhodotorula* และฟังไจที่มีลักษณะเป็นไฮฟ่าทุกชนิด

ผนังเซลล์ของยีสต์ทุกชนิดมีโปรตีนประกอบอยู่ด้วย ผนังเซลล์ของ *S. cerevisiae* มีโปรตีนประกอบอยู่ 6 - 8 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนบางอย่างก็ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ ทั้งนี้เนื่องจากการพิสูจน์พบว่ามีเอนไซม์ invertase และ hydrolase อื่น ๆ อยู่ในผนังเซลล์ ความเข้มข้นของลิปิดอยู่ในช่วง 8.5 ถึง 13.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของไคติน (chitin) เปลี่ยนแปลงไปตามจีนัสของยีสต์ *Schizosaccharomyces* spp. ไม่มีไคติน *S. cerevisiae* มีประมาณ 1.0 ถึง 2.0 เปอร์เซ็นต์และในบางจีนัสโดยเฉพาะพวกยีสต์ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายมีปริมาณไคตินมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ Glucosamine ซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของฟังไจพวกที่เป็นเส้นสายถูกพบด้วยปริมาณเพียงเล็กน้อยในผนังเซลล์ของยีสต์ ชนิดและปริมาณของสารอนินทรีย์ปรากฏอยู่ในผนังเซลล์ของยีสต์ด้วยปริมาณซึ่งแตกต่างกันมาก

เยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic membrane) เป็นเยื่อซึ่งมีคุณสมบัติเกี่ยวกับการออสโมสิส เช่นเดียวกันกับที่ได้อธิบายมาแล้วสำหรับเซลล์แบคทีเรีย มีความหนาประมาณ 8 ไมโครมีเตอร์ ประกอบด้วยสามชั้น (triple-layered) ชั้นนอกและในสุดเป็นชั้นซึ่งทึบต่อลำอิเล็กตรอน จากการวิเคราะห์ชิ้นส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์แสดงว่ามีลิปิด (รวมทั้ง phospholipid) โปรตีน และโพลี่แซกคาไรด์ประกอบอยู่ จากการไฮโดรไลส์โพลี่แซกคาไรด์พบว่ามีแต่น้ำตาล mannose จากความพยายามและการวิจัยได้นำไปสู่การอธิบายว่าสารละลายสามารถผ่านทะลุเยื่อกั้นนี้ได้อย่างไร

ส่วนประกอบต่าง ๆ ในโปรโตพลาสซึม (Protoplasmic constituents) ในเซลล์ของยีสต์ตามแบบฉบับประกอบด้วยไซโตพลาสซึมมีลักษณะเป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวในไซโตพลาสซึม

ประกอบด้วยสารเป็นก้อนเล็ก ๆ ไรโบโซม (ribosome) อุดมไปด้วย RNA และโครงสร้างซึ่งมีเยื่อห่อหุ้มต่าง ๆ ระบบเยื่อ (membrane system) ที่พบในไซโตพลาสซึ่มคือ endoplasmic reticulum ซึ่งอาจต่ออยู่กับเยื่อหุ้มนิวเคลียสส่วนนอกหรืออาจร่วมอยู่อย่างใกล้ชิดกับเยื่อหุ้มเซลล์ มีเอนไซม์อยู่หลายชนิดที่พบอยู่ในไซโตพลาสซึ่ม

นิวเคลียส (Nucleus) จากการศึกษาชิ้นส่วนของเซลล์ซึ่งหั่นบางด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงให้เห็นว่านิวเคลียสของยีสต์เป็นโครงสร้างซึ่งชัดเจน ถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อกึ่งซึม เรียกว่า semipermeable nuclear membrane นิวเคลียสมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเมตาโบลิซึ่มและการสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต

ถึงแม้ว่าการศึกษาโครงสร้างภายในของนิวเคลียสจะค่อนข้างลำบาก เนื่องจากความไม่ทึบต่ออิเล็กตรอนแต่ก็ได้รับความจริงหลายอย่างคือ (1) การรวมตัวควบแน่นของโครโมโซมไม่ปรากฏในยีสต์เซลล์ (2) เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ครบถ้วนไม่สลายตัวไปในระหว่างการแบ่งเซลล์และ (3) ในการแตกหน่อ นิวเคลียสจะคอดตัวแล้วส่งส่วนหนึ่งเข้าไปในเซลล์ลูก (daughter cell) และอีกส่วนหนึ่งยังคงอยู่ในเซลล์เดิมซึ่งเป็นเซลล์พ่อแม่ นอกจากนี้ในนิวเคลียสยังมีโครงสร้างอีกอย่างหนึ่งซึ่งมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมาก โครงสร้างส่วนนี้ถูกคิดว่าเป็นนิวคลีโอลัส (nucleolus)

ไมโตคอนเดรีย (Mitochondria) ไมโตคอนเดรียเป็นโครงสร้างอย่างหนึ่งซึ่งมีเยื่อหุ้ม (membrane-bound organelle) เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะปรากฏลักษณะคล้ายเส้นด้ายพับไปพับมา มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3 ถึง 1 ไมโครมีเตอร์และยาวถึง 3 ไมโครมีเตอร์ ไมโตคอนเดรียถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อสองชั้น เยื่อชั้นในสุดมีการพับย่นเข้าไปข้างในและเรียกส่วนที่พับย่นเข้าไปนี้ว่า cristae ไมโตคอนเดรียประกอบด้วยไลโปโปรตีนเป็นจำนวนมากและมี DNA, และ RNA จำนวนเล็กน้อย DNA นี้ไม่ใช่ DNA จากนิวเคลียส เนื่องจากไมโตคอนเดรียมีเอนไซม์ในการหายใจจึงถูกเรียกว่าเป็นโรงผลิตพลังงานของเซลล์เพราะมีหน้าที่หลักในการเปลี่ยนพลังงานภายใต้สภาพซึ่งมีแก๊สออกซิเจน

แวคูโอล (vacuole) แต่ละเซลล์ของยีสต์มีหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งแวคูโอล หรือหยดใสอยู่ในไซโตพลาสซึ่ม โครงสร้างเหล่านี้สามารถเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างเมื่อทำการย้อมสีอย่างเหมาะสมและสามารถบอกความแตกต่างจากไซโตพลาสซึ่มรอบ ๆ ได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเนื่องจากเป็นบริเวณซึ่งโปร่งต่ำลำอิเล็กตรอนและถูกจำกัดขอบเขตด้วยเยื่อหุ้มชั้นเดียว

ในขณะที่เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วสิ่งบรรจุอยู่ในแวคูโอล (vacuole sap) ไม่มีโครงสร้างที่เป็นชิ้นส่วนใด ๆ แต่ในขณะที่เซลล์เจริญเติบโตเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) แวคูโอลจะมีก้อนสารต่าง ๆ เพิ่มขึ้น ก้อนสารต่าง ๆ เหล่านี้อาจมีส่วนประกอบทางเคมีเป็นพวก เมตาฟอสเฟต โพลี่ฟอสเฟต หรือลิปิด จากการคัดแยกสารซึ่งมีอยู่ในแวคูโอลพบว่ามีสารที่มีกิจกรรมเป็นเอนไซม์เพื่อการย่อยสลายต่าง ๆ เช่น protease ribonuclease และ esterase ต่าง ๆ

จากสิ่งที่เหลือตกค้างอยู่จากการย่อยสลายในแวคูโอลแสดงให้เห็นว่าแวคูโอลก็คือ ไลโซโซม (lysosome) ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่ไม่ต้องการของเซลล์ นอกจากนี้แวคูโอลของยีสต์ยังทำหน้าที่เป็นที่เก็บพลังงานสำรองซึ่งยังไม่ได้ถูกใช้เป็นการชั่วคราวทั้งนี้จากการพบว่ามีก้อนสารต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นอยู่ภายใน

ก้อนตะกอนเบ็ดเตล็ดต่าง ๆ เซลล์ยีสต์ซึ่งมีผนังหนาและมีอายุมากมักมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความร้อน แสง ความแห้ง และสารเคมีต่าง ๆ ได้ดีกว่าปกติ ยีสต์บางสปีชีส์ก็เก็บไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือโปรตีนไว้เป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น *Endomycopsis vernalis* ได้ถูกทดลองใช้เป็นแหล่งของไขมันสำหรับเป็นอาหารของมนุษย์ในประเทศเยอรมันนีระหว่างสงครามลิปิดใน *E. vernalis* และ *Torulopsis lipofera* อาจมีมากเกินกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง บางสปีชีส์ก็ถูกใช้เป็นแหล่งของไกลโคเจน เอนไซม์ และวิตามินสำหรับจุลินทรีย์และถูกใช้เป็นอาหารเสริมของมนุษย์และสัตว์ ดังในตาราง

ตารางที่ 16-3 Vitamin B Content of Yeasts

VITAMIN	*Saccharomyces cerevisiae*, μg/g	OTHER *Saccharomyces* spp., μg/g
Thiamine	136.0	3.5
Riboflavin	28.0	35.6
Nicotinic acid	525.0	387.0
Pyridoxine	40.0	29.0
Pantothenic acid	69.5	57.4
Folic acid	3.5	20.8
Biotin	1.0	0.53
p-Aminobenzoic acid	5.0	11.0
Choline	3,800.0	2,860.0
Inositol	3,900.0	4,500.0

ที่ 16-3 บางพวกก็มีรงควัตถุสีเหลือง สีส้ม ชมพู น้ำตาล หรือดำเมื่อเชื้อมีอายุมาก (ประมาณ 3 สัปดาห์) รงควัตถุสีต่าง ๆ เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นรงควัตถุพวกคาโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งละลายในไขมันและวิตามินเอ รงควัตถุพวกที่มีกิจกรรมทางชีววิทยา เช่น ไซโตโครม ฟลาวิน ฮีโมโกลบิน และอื่น ๆ ที่พบในพืชและสัตว์ชั้นสูงก็ถูกพบในยีสต์เช่นกัน

ลักษณะของเชื้อ (Cultural Characteristics)

บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม โคโลนีของยีสต์มีขนาด รูปร่าง โครงสร้าง และขอบแบบต่าง ๆ เช่นเดียวกันกับแบคทีเรีย ตัวอย่างเช่นโคโลนีของยีสต์บางพวกก็เรียบ บางพวกก็ย่นขรุขระ บางพวกก็แบนราบและบางพวกก็นูนสูง บางพวกก็มีขอบหมดจดแต่บางพวกก็มีขอบผิดปกติหรือหยักเป็นขน โคโลนีอายุน้อยมีความข้นเหนียวคล้ายกาวแป้งแล้วจะข้นและแห้งขึ้นเมื่อมีอายุมากขึ้นและอาจมีรงควัตถุเกิดขึ้น ประเภทของการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวก็เป็นลักษณะที่สำคัญของเชื้อบางพวกก็เจริญเติบโตที่ก้นของอาหารเหลวแล้วทำให้เกิดเป็นตะกอนเซลล์ บางพวกก็เจริญเติบโตทั่วไปในอาหารเหลว และบางพวกก็เจริญเติบโตเฉพาะที่ผิวหน้าของอาหารเหลวทำให้เกิดเป็นเยื่อหรือเมือกปกคลุมผิวหน้าของอาหาร

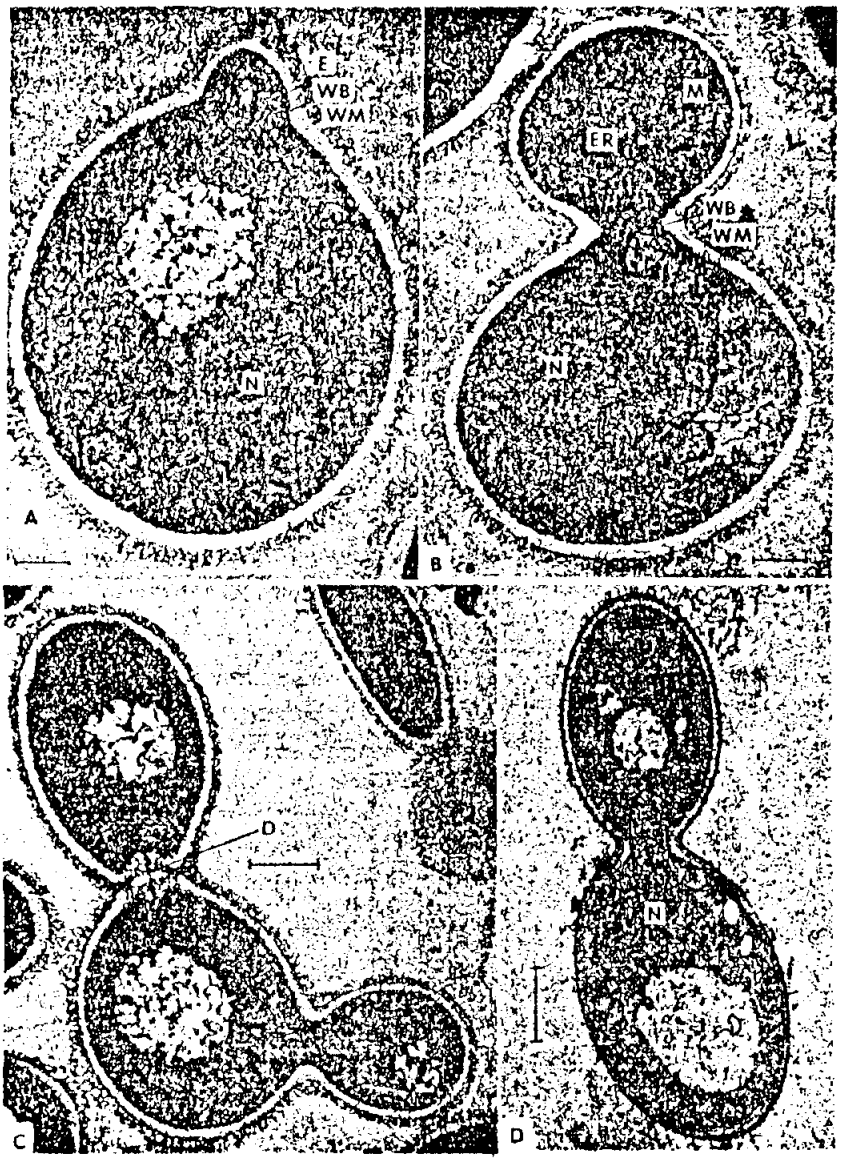
การสืบพันธุ์ของยีสต์

ยีสต์อาจสืบพันธุ์ได้โดยการสร้างสปอร์ (sporulation) การแตกหน่อ (budding) และการแตกตัว (fission)

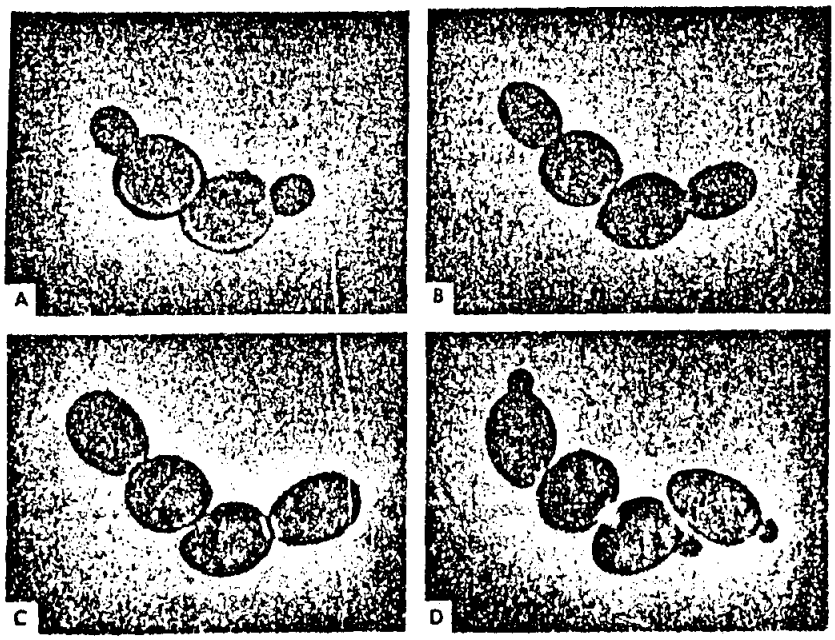
การแตกหน่อ วิธีการสืบพันธุ์สามัญที่สุดของยีสต์คือ การแตกหน่อดังรูปที่ 16-6 ถึง 16-8 ในขบวนการนี้จะมีท่อส่งออกจากนิวเคลียแวคูโอลซึ่งอยู่ติดกับนิวเคลียสของเซลล์พ่อแม่ชี้ตรงไปยังผนังเซลล์ซึ่งใกล้กับแวคูโอลที่สุด ที่ผิวนอกของเซลล์จะมีส่วนที่โปร่งออกมาเล็กน้อยเนื่องจากผนังเซลล์บริเวณนั้นอ่อนตัวลง ท่อซึ่งยื่นออกจากนิวเคลียแวคูโอลจะผ่านเข้าไปในส่วนที่โปร่งนั้นแล้วขยายตัวออกบรรจุด้วยสารนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมจากเซลล์พ่อแม่ ผนังของหน่อเซลล์ซึ่งแตกออกมาจะถูกบรรจุด้วยสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่เท่านั้น เมื่อตาหรือหน่อมีขนาดโตเกือบเท่ากับเซลล์พ่อแม่ อุปกรณ์นิวเคลียสในเซลล์ทั้งสองจะมีการจัดเรียงตัวเสียใหม่จนกระทั่งเซ็นโตรโซม (centrosome) ของแต่ละเซลล์ถูกทำให้อยู่ท้ายสุดตรงตำแหน่งที่ติดกัน หลังจากการแบ่งนิวเคลียสเสร็จสิ้นลงแล้วจะมีผนังกั้นระหว่างสองเซลล์ในลักษณะเดียวกันกับยีสต์ที่มีการแบ่งตัวและฟังไจอื่น ๆ ตรงตำแหน่งนี้เซลล์พ่อแม่ (parent) และเซลล์ลูก (daughter cell) จะถูกแยกออกจากกันถึงแม้ว่าในบางครั้งอาจยังคงเกาะติดกันอยู่และมีตาหน่อใหม่เกิดขึ้นก็ตาม ในระหว่างชั่วชีวิตยีสต์เซลล์ที่โตเต็มที่อาจแตกหน่อได้ประมาณ 24

เซลล์ลูก ตาหน่อใหม่ที่เกิดขึ้นต่อ ๆ มามักเกิดขึ้นที่ตำแหน่งต่าง ๆ กันบนผิวเซลล์ ร่องรอยการเกิดตาหรือหน่อ (bud or birth scar) ยังคงติดอยู่ที่เซลล์แม่เป็นผลเนื่องมาจากเซลล์มีการแบ่งตัวโดยการแตกหน่อ

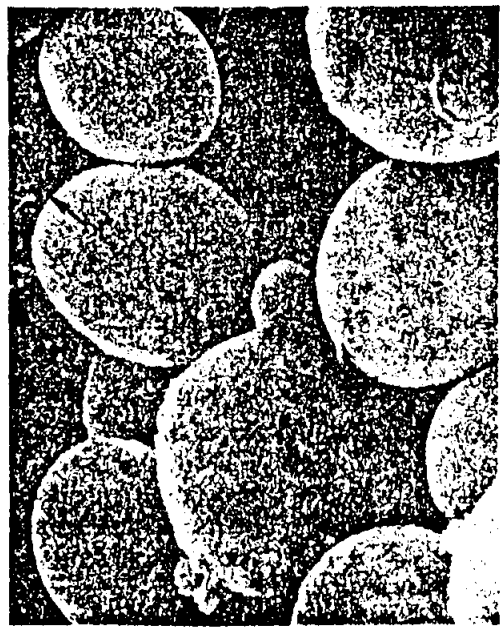
การแตกตัว การแตกตัวเป็นสอง (binary fission) เป็นขบวนการสืบพันธุ์ทางร่างกายหรือแบบไม่ใช้เพศอย่างหนึ่งของยีสต์ซึ่งคล้ายกับการสืบพันธุ์ของแบคทีเรีย ยีสต์เซลล์จะพองโตหรือยาวออก มีการแบ่งนิวเคลียสและทำให้เกิดเซลล์ใหม่สองเซลล์เช่นพวก *Schizosaccharomyces-*



รูปที่ 16-6 (A) An early stage of bud formation in *Endomycopsis platypodis*. A later stage is seen in (B). Identified structures in the cells are mitochondria M, endoplasmic reticulum ER, nucleus N, and wall of the bud WB, which is seen rising from the wall of the mother cell WM. (C) Budding cells of *E. platypodis*. The narrow channel D, connecting two adjacent hyphal cells is called a *dolipore*. (D) Section through a budding cell of *Saccharomyces cerevisiae*. The wall of the bud is seen protruding from inside the mother cell. (The markers on the electron micrographs represent 0.5 μm.) *(Courtesy of N. J. W. Kreger-van Rij and M. Veenhuis. From J Gen Microbiol,* **58***:341–346,* 1969.)



รูปที่ 16-7 Actively budding yeasts produce mature daughter cells in about 30 min. These photographs were taken at 10-min intervals. *(Courtesy of Carl C. Lindegren.)*



รูปที่ 16-8 *Saccharomyces cerevisiae* showing bud and bud scars (arrows), × 1,600. *(Courtesy of R. G. Kessel and C. Y. Shih, Scanning Electron Microscopy in Biology, Springer-Verlag, Berlin, 1974.)*

เมื่อมีการสืบพันธุ์โดยการแตกตัวตามขวาง (transverse fission) ในระหว่างช่วงระยะเวลาที่มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเซลล์อาจมีการแบ่งตัวโดยไม่แยกออกจากกันจนกระทั่งเซลล์ติดต่อกันเป็นลูกโซ่

การแตกตัวและการแตกหน่อแบบผสม การสืบพันธุ์ของยีสต์อีกวิธีหนึ่งคือ การแตกตาผสมการแตกตัว (bud-fission) เป็นวิธีการประนีประนอมระหว่างการแตกหน่อกับการแตกตัวเป็นสองดังกล่าวข้างต้น ขบวนการนี้เกิดขึ้นในพวก *Saccharomycodes* และ *Nadsonia* ตาจะเกิดขึ้นที่ปลายหรือขั้วของเซลล์แล้วมีผนังกั้น (septum) แบ่งระหว่างเซลล์พ่อแม่กับเซลล์ลูก โดยการเจริญเติบโตยื่นเข้าไปชนกันตรงกลางของผนังเซลล์ด้านในดังเช่นที่พบในแบคทีเรีย

การสร้างสปอร์ การสร้างสปอร์ (sporulation) โดยทั่วไปของยีสต์ปกติหมายถึงการสร้างสปอร์เพศ (แอสโคสปอร์หรือเบสิดิโอสปอร์) รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (เป็นแอสคัสหรือเบสิเดี่ยม) โดยขบวนการแบ่งและลดจำนวนโครโมโซม (meiosis) ขบวนการสร้างสปอร์ร่างกายหรือสปอร์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับเพศของยีสต์อาจเกิดขึ้นได้เช่น โคนิเดีย, อาร์โธรสปอร์, บลาสโตสปอร์, บอลลิสโตสปอร์และคลามายโดสปอร์

ยีสต์พวก Basidomycetes มีวงจรทางเพศอาจอธิบายได้ในสามแนวทางคล้ายกับเชื้อราพวกที่อยู่ใน subclass Heterobasidomycetes ดังจะได้อธิบายต่อไปนี้และสปีชีส์หนึ่งอาจมีวงจรทางเพศมากกว่าหนึ่งแนวทาง

แนวทางที่หนึ่ง : แฮพลอยด์เซลล์ซึ่งมีเพศตรงข้ามกันรวมตัวกันทำให้เกิดเป็นไมซีเลี่ยมประกอบด้วยเซลล์ที่มีสองนิวเคลียส (dikaryotic mycelium) และมีคีมจับเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ (clamp connection) คลามายโดสปอร์ (ทีลิโอสปอร์) เกิดขึ้นบนไมซีเลี่ยมและมีการรวมตัวกันของนิวเคลียส (diploidization) เกิดขึ้น ไมโอสิส (meiosis) เกิดขึ้นเมื่อมีการงอกของคลามายโดสปอร์เป็นโปรไมซีเลี่ยม (เบสิเดี่ยม) แล้วมีการแตกหน่อได้เป็นสปอริเดีย (เบสิดิโอสปอร์) หรือแฮพลอยด์ยีสต์ เซลล์ที่มีเพศ (mating type) ต่าง ๆ กัน ดังแสดงในรูปที่ 16-2

แนวทางที่สอง : ยีสต์เซลล์ที่แตกเป็นหน่อหลุดออกจากโปรไมซีเลี่ยมไม่มีการรวมตัวกัน แต่จากแต่ละเซลล์วงจรทั้งหมดอาจเกิดขึ้นได้อีก ยีสต์เซลล์ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้ถูกเรียกว่ายีสต์ที่มีการสร้างสปอร์ได้ด้วยตัวเองโดด ๆ (self-sporulating yeast) เข้าใจว่าในระหว่างการงอกของคลามายโดสปอร์ไม่มีขบวนการไมโอสิสเกิดขึ้นและยีสต์เซลล์ที่เกิดขึ้นก็มีลักษณะเป็นดิพลอยด์ อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่เข้าใจกันว่าไมซีเลี่ยมที่ประกอบด้วยเซลล์ซึ่งมีสองนิวเคลียส (dikaryotic-mycelium) เกิดขึ้นได้อย่างไรจากดิพลอยด์เซลล์

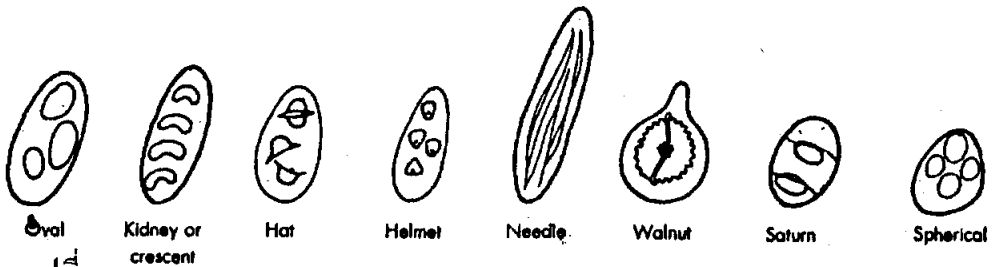
แนวทางที่สาม : ไม่มีไมซีเลี่ยมที่ประกอบด้วยเซลล์ซึ่งมีสองนิวเคลียสเกิดขึ้นแต่คลามายโดสปอร์เกิดขึ้นบนไมซีเลี่ยมที่ประกอบด้วยเซลล์ซึ่งมีนิวเคลียสเดียว และไม่มีคีมจับเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ ยีสต์เซลล์เหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นยีสต์ซึ่งมีการสร้างสปอร์ได้ด้วยตัวเองโดด ๆ ไมโอสิสถูกสันนิษฐานว่าเกิดขึ้นในคลามายโดสปอร์

ยีสต์ใน Class Ascomycetes หรือยีสต์ที่สร้างแอสโคสปอร์ ช่วงระยะเวลาของการรวมตัวกัน (conjugation) และการทำให้เป็นดิพลอยด์ (diploidization) ในวงจรชีวิตนั้นเปลี่ยนแปลงไปต่าง ๆ ในบางสปีชีส์แอสโคสปอร์ที่งอกออกมาหรือเซลล์แรกของระยะแฮพลอยด์จะรวมตัวกันแล้วทำให้ได้ระยะดิพลอยด์ (diplophase) ซึ่งยาวนาน แต่ในบางสปีชีส์การรวมตัวกันระหว่างสองเซลล์ซึ่งทำให้ได้เป็นไซโกต (zygote) จะเปลี่ยนแปลงเป็นแอสคัสโดยทันทีและมีระยะแฮพลอยด์ (halophase) ยาวนาน การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันในแง่ที่ว่าระยะดิพลอยด์กับระยะแฮพลอยด์อย่างไหนจะยาวนานกว่ากัน ดังนั้นยีสต์เชื้อหนึ่ง ๆ อาจประกอบด้วยแฮพลอยด์หรือดิพลอยด์เซลล์หรือประกอบด้วยเซลล์ทั้งสองชนิด การรวมตัวกันอาจเกิดขึ้นระหว่างเซลล์ที่มีเพศ (mating type) เหมือนกันหรือต่างกันของสายพันธุ์ซึ่งผลิตเซลล์ผสมพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในแธลลัสเดียวกันแล้วผสมพันธุ์กันเองได้ (homothallic) หรือสายพันธุ์ซึ่งผลิตเซลล์ผสมพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในต่างแธลลัสกัน (heterothallic) ตามลำดับ แอสคัสปกติมีสปอร์ตั้งแต่หนึ่งถึงสี่สปอร์แต่อาจมีถึงแปดหรือมากกว่านี้ก็ได้ สปอร์เกิดขึ้นโดยการแบ่งตัวของนิวเคลียสซ้ำ ๆ กันแต่ละนิวเคลียสที่เกิดขึ้นจะถูกล้อมรอบด้วยสารซึ่งเป็นไซโตพลาสซึมแล้วถูกห่อหุ้มด้วยผนังเซลล์

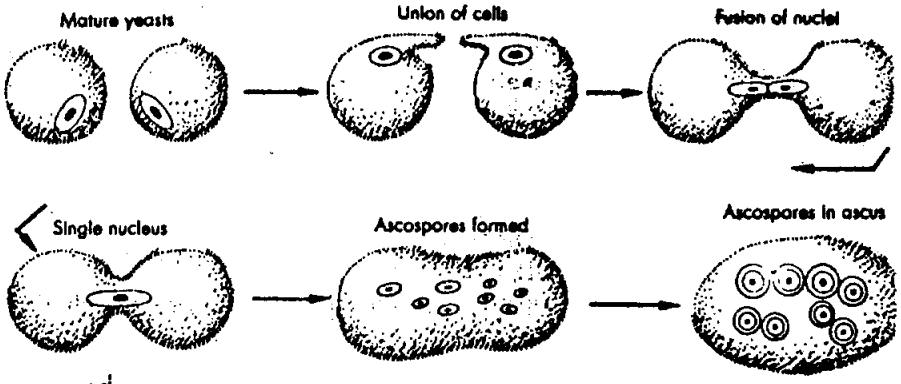
การรวมตัวกันอาจเป็นแบบไอโซกามิก (Isogamic) เมื่อนิวเคลียสของทั้งสองเซลล์มีขนาดและรูปร่างเหมือนกัน หรือเป็นแบบฮีทีโรกามิก (heterogamic) เมื่อนิวเคลียสของทั้งสองเซลล์มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน นิวเคลียสที่รวมตัวกันจะแบ่งตัวหนึ่งครั้งหรือหลายครั้งแล้วทำให้เกิดแอสโคสปอร์ จำนวนของแอสโคสปอร์ที่เกิดขึ้นในแต่ละแอสคัสเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่หนึ่งถึงแปดทั้งนี้ย่อมขึ้นอยู่กับจีนัสหรือสปีชีส์มีน้อยมากที่จะพบว่ามีแอสโคสปอร์มากกว่าแปดแต่ *Lipomyces* แอสคัสหนึ่งอาจมีถึง 16 แอสโคสปอร์ รูปร่างของแอสโคสปอร์เป็นลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน ตั้งแต่รูปร่างกลม รูปไข่ รูปไต และรูปหมวกจนถึงรูปร่างอื่น ๆ ดังรูปที่ 16-9 บางสปีชีส์ของยีสต์สร้างแอสโคสปอร์ได้ง่ายไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม บางสปีชีส์ก็ต้องการการเพาะเลี้ยงบนอาหารพิเศษและควบคุมสภาวะของเชื้ออย่างระมัดระวัง ยีสต์บางพวกก็สูญเสียความสามารถในการสร้างสปอร์เมื่อถูกเก็บไว้ภายใต้สภาวะในห้องปฏิบัติการเป็นเวลานาน การรวมตัวกันแบบไอโซกามิกของ *Schizosaccharomyces octospora* ได้แสดงไว้ในรูปที่ 16-10 ยีสต์สองเซลล์เข้ามาสัมผัสกันแล้วรวมตัวกันโดยใช้ท่อปล่อยให้นิวเคลียสจากแต่ละเซลล์เคลื่อนเข้าหากัน เมื่อนิวคลีไอทั้งสองพบกันจะรวมตัวเป็นนิวเคลียสเดียวกันแล้วดำเนินการแบ่งตัวเป็นลำดับสองหรือสามครั้งได้เป็นแปดนิวคลีไอลูก ปกตินิวเคลียสลูกแต่ละอันจะถูกบรรจุไว้ในเปลือกร่วมกับสารอาหารสำรองต่าง ๆ สี่หรือแปดสปอร์ปกติจะถูกห่อหุ้ม

ไว้ด้วยแอสคัส อย่างไรก็ตามยีสต์บางชนิดมักไม่ค่อยสร้างมากกว่าสี่สปอร์ต่อหนึ่งแอสคัส และในบางกรณีหนึ่งสองหรือสามนิวคลีไอาจสลายตัวไปแล้วทำให้จำนวนสปอร์ในหนึ่งแอสคัสลดลงตามส่วน

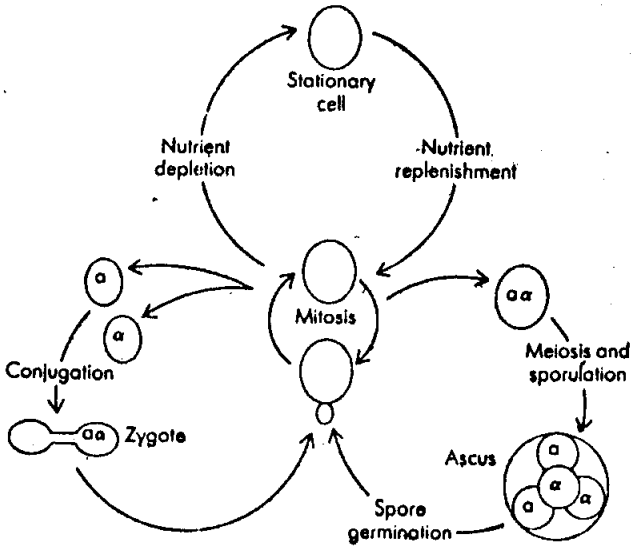
การสืบพันธุ์ของยีสต์อาจแจ่มชัดขึ้นถ้าได้ตรวจสอบดูวงจรชีวิตของยีสต์สปีชีส์หนึ่ง เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ดังรูปที่ 16-11 ในรูปนี้เน้นถึงความสัมพันธ์ของวงจรไมโตติก (mitotic cycle) กับแนวทางการเจริญเติบโตแบบอื่น ไมโตติกแฮพลอยด์เซลล์เพศ a หรือ α



รูปที่ 16-9 Ascospores of yeasts occur in a variety of characteristic shapes.



รูปที่ 16-10 Ascospores are formed as a result of sexual fusion of nuclei of two cells. After union of the two nuclei, division takes place to form daughter nuclei, which are surrounded by a sac, or ascus. This diagram is oversimplified, but it depicts the principal stages in ascospore formation in *Schizosaccharomyces octosporus*. Other species of Ascomycetes may form fewer than eight ascospores.



รูปที่ 16-11 The life cycle of *Saccharomyces cerevisiae*. a and α refer to mating-type alleles; unlabelled cells may be a, α, or aα. (Courtesy of L. H. Hartwell and Bacteriol Rev, 38:164–198, 1974.)

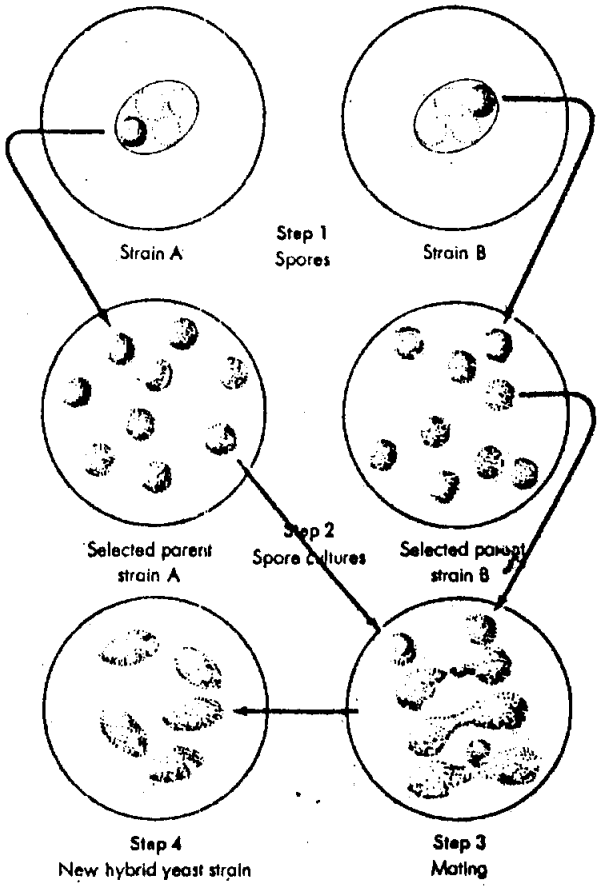
อาจเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) ใต้สภาวะที่สารอาหารถูกใช้ไปหมด หรืออาจจะรวมตัวกันกับแฮพลอยด์เซลล์ซึ่งมีเพศตรงกันข้ามทำให้ได้เป็นดิพลอยด์ไซโกตกลายเป็น aα ดิพลอยด์ไมโตติกเซลล์ไมโตติก aα ดิพลอยด์เซลล์อาจเข้าสู่ระยะคงที่ภายใต้สภาวะที่สารอาหารถูกใช้หมดไปหรืออาจทำการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอสิสแล้วสร้างสปอร์ การงอกของแฮพลอยด์ a และ α สปอร์ทำให้ได้แฮพลอยด์ไมโตติกเซลล์เมื่อสารอาหารอุดมสมบูรณ์ แนวทางอื่นซึ่งไม่ได้แสดงไว้ในรูปคือ แฮพลอยด์เซลล์หรือสปอร์ที่อยู่ในระยะคงที่อาจรวมตัวกันได้เป็นไซโกตโดยไม่ผ่านวงจรไมโตติกและดิพลอยด์เซลล์ในระยะคงที่อาจแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอสิสแล้วสร้างสปอร์โดยไม่ผ่านวงจรไมโตติกก็ได้

การผสมข้ามพันธุ์ (hybridization) : เนื่องจากยีสต์มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรมเพราะความสามารถในการหมักหรือออกซิไดซ์ซับสเตรตแล้วทำให้ได้ผลผลิตซึ่งมีประโยชน์ ดังนั้นจึงมีความสำคัญในการเลือกใช้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ซึ่งสามารถให้ผลผลิตในปริมาณสูงได้ ในการปฏิบัติอย่างสามัญในหลายศตวรรษที่ผ่านมาเพื่อให้ได้เชื้อที่ดีในการทำให้ขนมปังฟู การหมักเหล้าและเบียร์ หรือในการหมักน้ำผลไม้ให้เป็นไวน์เป็นวิธีการซึ่งไม่แน่นอนเป็นการคัดเลือกที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ เชื้อหลายอย่างอาจกลับกลายเป็นป่วยไข้ (sick) ไม่สามารถ

ทำงานอย่างที่ต้องการได้ เมื่อมีการค้นพบว่ากฎของเมนเดล (Mendelian law) ครอบคลุมถึงพันธุกรรมหรือการสืบเชื้อสาย (heredity) ของยีสต์ด้วยจึงทำให้สามารถสร้างเชื้อยีสต์ใหม่ที่มีลักษณะตามต้องการได้

การปรับปรุงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของยีสต์เป็นไปตามกฎของการสืบเชื้อสายโดยทั่วไปและก็มีข้อยกเว้นตามกฎนี้เช่นเดียวกัน เนื่องจากยีสต์เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถเพาะเลี้ยง ผสมพันธุ์และวิเคราะห์ได้ง่าย ดังนั้นจึงเป็นเครื่องมือทางชีววิทยาที่สมบูรณ์แบบในการศึกษาทางพันธุศาสตร์ (genetic)

การผสมข้ามพันธุ์ของยีสต์ที่แตกต่างกัน ดังรูปที่ 16-12 เพื่อทำให้เกิดยีสต์ซึ่งมีลักษณะ



รูปที่ 16-12 I. The four steps in the process of hybridization. Step 1: Yeast cells from two strains (A) and (B) are shown after they have been induced to form spores. The spores are removed by microdissection by means of a micromanipulator. Step 2: Each individual spore is planted in a nutrient medium and allowed to multiply to produce separate spore cultures. After careful testing for the desirable characteristics, two spore cultures of different sexes are selected for mating or crossbreeding. Step 3: When these two spore cultures are brought together, instead of budding, they fuse in pairs and produce a completely new yet stable combination of inherited qualities. Step 4: The new hybrid strain shown is a combination of the best qualities of strains (A) and (B). The new hybrid grows and reproduces by budding. As it grows, the new inherited qualities are equally transmitted to all cells reproduced. *(From A. J. Salle, Fundamental Principles of Bacteriology, 7th ed., McGraw-Hill, New York, 1973.)*

ของสองสายพันธุ์ตามต้องการสามารถกระทำได้ในสองวิธีทาง คือ (1) ใช้เครื่องมือที่ละเอียดอ่อนมากเรียกว่าไมโครแมนิพูเลเตอร์ (micromanipulator) จับแอสโคสปอร์สองต้นจากสายพันธุ์ซึ่งแตกต่างกันแต่สามารถผสมพันธุ์กันได้มาวางไว้ใกล้ ๆ กันจนกระทั่งเชื่อมรวมตัวกัน (conjugation) ผลของการเชื่อมรวมตัวกันทำให้ได้ไซโกตซึ่งเจริญเติบโตเป็นโคโลนีของดิพลอยด์เซลล์และมีจำนวนลักษณะจากโครโมโซมเป็นสองเท่าสามารถถ่ายลงสู่อาหารที่เหมาะสมเพื่อการเพิ่มจำนวนต่อไปได้ (2) ใช้วิธีการซึ่งมีความนุ่มนวลน้อยกว่าคือ gypsum-block method โดยวางเชื้อยีสต์ซึ่งเป็นดิพลอยด์ลงบนก้อนยิบซั่มเพื่อกระตุ้นให้สร้างสปอร์ เมื่อยีสต์สร้างสปอร์แล้วเซลล์ร่างกายที่เหลือจะถูกทำลายหรือฆ่าให้ตายโดยจุ่มก้อนยิบซั่มซึ่งมีเชื้ออยู่ลงในน้ำที่ 58 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ถึง 4 นาที สปอร์ซึ่งไม่ถูกทำลายจะถูกนำไปวางไว้บนอาหารแข็งโดยให้อยู่ห่าง ๆ กันจนกระทั่งหนึ่งสปอร์เจริญเติบโตเป็นหนึ่งโคโลนี โคโลนีเหล่านี้เป็นแฮพลอยด์โคโลนี เซลล์จากแฮพลอยด์โคโลนีจะถูกถ่ายลงสู่อาหารเหลวหลังจากที่ได้ตรวจสอบลักษณะต่าง ๆ แล้วเชื้อที่มีคุณสมบัติตามต้องการจะถูกนำมาเพาะเลี้ยงร่วมกันเพื่อทำให้เกิดลูกผสมข้ามพันธุ์กัน

สรีรวิทยาของยีสต์ (Physiology of yeast)

ในหมวดหมู่ของยีสต์จะพบว่ามีปฏิกิริยาแตกต่างกันหลายอย่างทางสรีรวิทยา เช่นเดียวกันกับทางสัณฐานวิทยาและกลไกในการสืบพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตามยีสต์โดยทั่วไปก็มีความเหมือนกันมากพอควร

การทำให้น้ำตาล เช่น กลูโคสสลายตัวอาจเกิดขึ้นได้ทั้งในสภาพที่ไม่มีแก๊สออกซิเจน (การหมัก) และสภาพที่มีแก๊สออกซิเจน (การหายใจ) ขบวนการที่เป็นแบบฉบับที่สุดคือขบวนการทำให้น้ำตาลกลูโคสสลายตัวภายใต้สภาพที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนแล้วได้แอลกอฮอล์เรียกว่าขบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) ผลผลิตขั้นสุดท้ายคือ แอลกอฮอล์กับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

ขบวนการหมักเกิดขึ้นโดยผ่านขบวนการไกลโคไลสิส (glycolysis) ดังกล่าวมาแล้วในบทที่ 10

ภายใต้สภาพซึ่งมีแก๊สออกซิเจนการสลายตัวเกิดขึ้นโดยใช้แก๊สออกซิเจนจากอากาศในหลาย ๆ แนวทาง ในการหายใจถ้าน้ำตาลกลูโคสถูกออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์จะได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่ถ้าเป็นการออกซิไดซ์ที่ไม่สมบูรณ์จะได้กรดและสารตัวกลาง

อื่น ๆ ร่วมด้วย เส้นทางการออกซิไดซ์ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ Krebs tricarboxylic acid cycle ลวิรวิทยาอย่างมีนัยสำคัญของการออกซิไดซ์ภายใต้สภาพซึ่งมีและไม่มีแก๊สออกซิเจนในแง่ของพลังงานได้กล่าวถึงมาแล้วในบทที่ 10

ความสำคัญอย่างเหมาะสมของยีสต์ต่อมนุษย์คือการผลิตแอลกอฮอล์ กรด เอสเทอร์ ทลีเซอรอล และอัลดีไฮด์ ปฏิกิริยาการหมักเกิดขึ้นภายใต้สภาพซึ่งไม่มีแก๊สออกซิเจนแต่ถ้าให้อากาศแก่เชื้อในระหว่างการเพาะเลี้ยงการหมักจะถูกเจือจางให้หยุดลง ทั้งนี้เนื่องจากมีแนวทางการออกซิไดซ์ที่ดีกว่า ก่อนที่เชื้อยีสต์จะสามารถหมักพวก ได- ไตร- และโพลี-แซคคาไรด์ ยีสต์จะต้องย่อยสลาย (hydrolyze) ให้โมเลกุลเล็กลงเสียก่อนด้วยแอนไซม์ไฮโดรเลส (hydrolase) ต่าง ๆ แต่เนื่องจากแอนไซม์ไฮโดรเลสประเภทต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปตามจีนัสและสปีชีส์ของยีสต์ ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้ยีสต์ต่างสปีชีส์ที่เหมาะสม ยีสต์ยังเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ด้วยเอนไซม์อื่น เช่น lactase invertase และ catalase ซึ่งมีความสำคัญในทางการค้า

ในขบวนการหายใจของยีสต์มีความแตกต่างกันในด้านการใช้สารประกอบ ยีสต์บางพวกสามารถใช้น้ำตาลเพ็นโตส (D-xylose, D-ribose) ; โพลี่แซกคาไรด์ (แป้ง) น้ำตาลแอลกอฮอล์ (mannitol, sorbitol) ; กรดอินทรีย์ เช่น แลคติก, อะซิติก, ซิตริก และสารอินทรีย์อื่น ๆ

ยีสต์ได้รับไนโตรเจนในการเมตาโบลิซึมเพื่อสังเคราะห์โปรตีนจากแหล่งซึ่งเป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ สปีชีส์ต่าง ๆ ของยีสต์ส่วนมากสามารถใช้แอมโมเนียมไอออนได้ ความแตกต่างกันในด้านความสามารถในการใช้ไนเตรตและไนไตรต์และการกำจัดแอมโมเนีย (deaminate) ออกจากกรดอะมิโนช่วยในการบอกความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์ (strain) หรือสปีชีส์ต่าง ๆ

ยีสต์อาจได้รับกำมะถันในรูปของเกลือซัลเฟตแต่ยีสต์บางชนิดก็ชอบใช้สารอินทรีย์กำมะถัน เช่น cysteine หรือ methionine เป็นต้น แร่ธาตุอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ประกอบด้วยโปแตสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และแคลเซียม ธาตุรองอื่น ๆ จำนวนเล็กน้อยคือ โบรอน ทองแดง สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ไอโอดีน และโมลิบดีนั่มก็มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

ยีสต์พวกซึ่งชอบเจริญเติบโตอยู่ภายใต้สภาพซึ่งมีแรงดันออสโมซิสสูง (Osmophilic yeast) สามารถเจริญเติบโตอยู่ภายในสภาพซึ่งมีความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลสูงได้โดยมีความชื้นจำกัด

ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิซึ่งกว้างตั้งแต่ 0 ถึง 47 องศาเซลเซียส ยีสต์บางพวกจะไม่เจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงเกิน 15 องศาเซลเซียส แต่บางพวกก็ไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ อุณหภูมิเหมาะสม (optimum) ต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ส่วนมากคือ 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส ยีสต์พวกที่เป็นเชื้อโรคเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 30 และ 37 องศาเซลเซียส

โดยทั่วไปยีสต์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหารซึ่งมีสภาพเป็นกรดสูง ยีสต์เจริญเติบโตได้ดีที่พีเอช 3.5 ถึง 3.8 ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนมาก ความทนทานต่อกรด (acid-tolerance) ของยีสต์เปลี่ยนแปลงได้ตามสายพันธุ์หรือสปีชีส์ตั้งแต่พีเอช 2.2 ถึง 8

การเพาะเลี้ยงยีสต์ในห้องปฏิบัติการโดยให้แก๊สออกซิเจนเพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตอาจใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียตามปกติได้หลายอย่าง เช่น nutrient broth และ nutrient agar ที่ดัดแปลงไปต่าง ๆ อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อโดยสามัญซึ่งใช้ในการคัดแยกเชื้อยีสต์คือ 5% malt extract agar และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อของ Wickerham ดังในตารางที่ 16-4 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ผลไม้และผักจะช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของยีสต์ได้เป็นอย่างดี นอกจากอาหารสังเคราะห์หลายชนิดช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของยีสต์แล้วอาหารบางอย่างก็ถูกใช้เพื่อกระตุ้นให้ยีสต์บางชนิดสร้างสปอร์ดังในตารางที่ 16-4

ตารางที่ 16 - 4

WICKERHAM'S MEDIUM	
Ingredient	**Percent**
Malt extract	0.3
Yeast extract	0.3
Peptone	0.5
Glucose	1.0
Agar	2.0
SPORULATION MEDIUM	
Ingredient	**Amount**
Sodium acetate (anhydrous)	0.5 g
KCl	1.0 g
Agar	1.5 g
Distilled water	100 ml